



17 12 2004

BREVET D'INVENTION

REC'D 07 JAN 2005

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

WIPO

PCT

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 23 NOV. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr





BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

26bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 Paris Cédex 08
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livre VI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: DATE DE DÉPÔT:	Jean LEHU BREVATOME 3, rue du Docteur Lancereaux 75008 PARIS France
Vos références pour ce dossier: B14440 LP-DD2603YL	

1 NATURE DE LA DEMANDE	
Demande de brevet	
2 TITRE DE L'INVENTION	
	PROCÉDE ET DISPOSITIF DE DIVISION D'UN ÉCHANTILLON BIOLOGIQUE PAR EFFET MAGNETIQUE.
3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE	Pays ou organisation Date N°
4-1 DEMANDEUR	
Nom Rue Code postal et ville Pays Nationalité Forme juridique	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE 31-33, rue de la Fédération 75752 PARIS 15ème France France Etablissement Public de Caractère Scientifique, technique et Ind
4-2 DEMANDEUR	
Nom Rue Code postal et ville Pays Nationalité Forme juridique	BIOMERIEUX SA Chemin de l'Orme 69280 MARCY L'ETOILE France France Société anonyme

5A MANDATAIRE

Nom	LEHU
Prénom	Jean
Qualité	Liste spéciale: 422-5 S/002, Pouvoir général: 7068
Cabinet ou Société	BREVATOME
Rue	3, rue du Docteur Lancereaux
Code postal et ville	75008 PARIS
N° de téléphone	01 53 83 94 00
N° de télécopie	01 45 63 83 33
Courrier électronique	brevets.patents@brevalex.com

6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS

	Fichier électronique	Pages	Détails
Texte du brevet	textebrevet.pdf	34	D 26, R 7, AB 1
Dessins	dessins.pdf	4	page 4, figures 6, Abrégé: page 2, Fig.2
Désignation d'inventeurs			
Pouvoir général			

7 MODE DE PAIEMENT

Mode de paiement	Prélèvement du compte courant
Numéro du compte client	024

8 RAPPORT DE RECHERCHE

Etablissement immédiat	
------------------------	--

9 REDEVANCES JOINTES

	Devise	Taux	Quantité	Montant à payer
062 Dépôt	EURO	0.00	1.00	0.00
063 Rapport de recherche (R.R.)	EURO	320.00	1.00	320.00
068 Revendication à partir de la 11ème	EURO	15.00	25.00	375.00
Total à acquitter	EURO			695.00

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Réception électronique d'une soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou de certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été attribués automatiquement.

Demande de brevet : ☒ XDemande de CU : ☐

DATE DE RECEPTION	15 décembre 2003	
TYPE DE DEPOT	INPI (PARIS) - Dépôt électronique	Dépôt en ligne: <input checked="" type="checkbox"/> X Dépôt sur support CD: <input type="checkbox"/>
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI	0351059	
Vos références pour ce dossier	B14440 LP-DD2603YL	

DEMANDEUR

Nom ou dénomination sociale	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Nombre de demandeur(s)	2
Pays	FR

TITRE DE L'INVENTION

PROCEDE ET DISPOSITIF DE DIVISION D'UN ECHANTILLON BIOLOGIQUE PAR EFFET MAGNETIQUE.

DOCUMENTS ENVOYES

package-data.xml	Requetefr.PDF	fee-sheet.xml
Design.PDF	ValidLog.PDF	textebrevet.pdf
FR-office-specific-info.xml	application-body.xml	request.xml
dessins.pdf	indication-bio-deposit.xml	

EFFECTUE PAR

Effectué par:	J. Lehu
Date et heure de réception électronique:	15 décembre 2003 16:20:09
Empreinte officielle du dépôt	AC:D8:FB:2E:B3:91:01:15:67:90:4A:D4:19:13:F1:7A:2C:C2:83:B7

/ INPI PARIS, Section Dépôt /

SIEGE SOCIAL
INSTITUT 28 bis, rue de Saint Polcarbourg
NATIONAL DE 75800 PARIS cedex 08
LA PROPRIETE Téléphone : 01 53 04 53 04
INDUSTRIELLE Télécopie : 01 42 93 59 30

**PROCEDE ET DISPOSITIF DE DIVISION D'UN ECHANTILLON
BIOLOGIQUE PAR EFFET MAGNETIQUE**

DESCRIPTION

DOMAINE TECHNIQUE

La présente invention se rapporte à un
5 procédé de division, équitable ou non, d'un analyte
présent dans un échantillon, à un dispositif et à un
système pour la mise en œuvre de ce procédé.

Plus particulièrement, l'invention concerne
l'utilisation de moyens magnétiques pour procéder à la
10 division de l'analyte qui est préalablement fixé sur
des particules magnétiques.

ÉTAT DE LA TECHNIQUE ANTÉRIEURE

On entend par analyte tout ou partie de
corpuscule ou molécule que l'on désire isoler et/ou
15 changer de milieu pour être utilisé et/ou mis en
évidence tel qu'un microorganisme, une bactérie, un
champignon, un virus, une cellule eucaryote ; un
composé chimique ; une molécule telle qu'un peptide,
une protéine, un enzyme, un polysaccharide, un lipide,
20 une lipoprotéine, un lipopolysaccharide, un acide
nucléique, une hormone, un antigène, un anticorps, un
facteur de croissance, un haptène ; une cellule telle
qu'une cellule tumorale etc.

La présente invention s'applique à tous les
25 domaines dans lesquels il existe un besoin d'effectuer
des traitements en parallèle sur un même échantillon,
par exemple dans le cas où les traitements sont

exclusifs entre eux ou doivent être réalisés dans des solutions incompatibles entre elles.

Ainsi, dans certains tests diagnostic *in vitro*, on désire réaliser un certain nombre d'amplifications du type PCR sur un échantillon initial ; ces différentes amplifications nécessitent souvent des amorces différentes, des conditions thermiques différentes et des composants de tampons différents pour optimiser l'amplification.

De même, lors de tests immunologiques, un certain nombre de ligands différents doivent être testés avec une protéine initiale ; pour la reconnaissance anticorps/antigène, une seule espèce présente dans l'échantillon subit un certain nombre de réactions.

L'une des solutions les plus simples pour diviser un échantillon présent en phase liquide en un certain nombre de sous-échantillons consiste à prélever un sous-volume du volume initial et à l'introduire dans un contenant où doit avoir lieu l'une parmi les réactions spécifiques que l'on veut faire subir à l'analyte.

Cette solution présente une limitation évidente au niveau du plus petit volume manipulable, de l'ordre de quelques microlitres avec une précision de l'ordre de 1%. En deçà, on perd du liquide et donc de l'analyte en le transportant dans des « gros » contenants tels que des cônes de pipettes, des flacons, etc. En outre, il se pose des problèmes d'évaporation et d'adsorption sur les parois des contenants lors de ces manipulations. Cette solution nécessite de plus des

transferts de liquide, manuels ou automatiques, conduisant à une réduction inévitable de la quantité d'analyte analysable et à une dilution de celui-ci jusqu'à obtenir une division tout à fait différente de la division initialement prévue : dans le cas d'une concentration faible d'analyte dans l'échantillon au départ, ceci peut provoquer la disparition totale de l'analyte ou une diminution de sa quantité telle qu'il peut devenir indétectable.

Une autre solution consiste à remplir un contenant unique comportant un aiguillage muni de vannes vers les sous-tenants. La mise en place de ces vannes devient complexe et encombrante dès que le nombre de sous-tenants dépasse quelques unités.

Il existe donc un réel besoin d'un procédé et d'un dispositif permettant de diviser, équitablement ou non, un analyte pour le transporter d'un contenant initial dans un certain nombre de deuxièmes tenants sans manipulation fluide et avec une bonne efficacité. Par transport de l'analyte au sens de la présente invention, on entend déplacement de l'analyte d'un contenant à un autre contenant, avec ou sans le milieu liquide dans lequel il est présent.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

La présente invention répond à ce besoin, parmi autres avantages.

Selon l'un de ses aspects, l'invention concerne un procédé de division d'un analyte présent dans une solution dans un premier contenant et fixé sur des particules magnétiques. Par des premiers moyens

magnétiques, les particules sont sédimentées, et l'analyte est réparti en une pluralité de culots localisés dans des deuxièmes contenants.

5 Selon l'un des modes de réalisation, les particules magnétiques sont sédimentées en au moins un culot dans le premier contenant, un culot dérivé étant déplacé vers des deuxièmes contenants par des deuxièmes moyens magnétiques. Avantageusement, les deuxièmes
10 moyens magnétiques se déplacent relativement par rapport au premier contenant. De façon préférée, les mêmes moyens magnétiques sont utilisés pour sédimenter le culot et le déplacer, c'est-à-dire, les premiers et deuxièmes moyens magnétiques sont confondus en une seule entité.

15 Les deuxièmes contenants sont reliés au premier contenant chacun par un canal fluidique et remplis par une solution qui peut être identique ou non, similaire ou non à la première.

20 Le procédé de division évite donc tout pipetage et déplacement de la solution en tant que telle ; ceci permet une plus grande précision et de travailler sur des volumes inférieurs. Le procédé permet par ailleurs d'effectuer la division en même temps qu'un éventuel transfert de l'analyte de la
25 solution initiale vers une autre solution nécessaire pour les analyses.

Avantageusement, chaque deuxième contenant est relié au premier par un unique canal fluidique, mais il est possible que les deuxièmes contenants
30 soient reliés par un nombre différent de canaux les uns des autres. Le contrôle de l'agencement des canaux

permet de déterminer la quantité d'analyte dans chaque
deuxième contenant. Ainsi, l'agencement de canaux
identiques, en parallèle et espacés l'un de l'autre par
un pas identique permet d'obtenir facilement un procédé
5 de division équitable.

Selon l'une des variantes préférées de ce
mode de réalisation, un seul culot linéaire est formé,
dont la taille est identique à celle du premier
contenant, qu'il traverse donc ; une possibilité est
10 l'utilisation d'un aimant long ou d'une bobine à
induction de forme allongée par exemple. Le culot est
ensuite déplacé, éventuellement par déplacement relatif
de la bobine ou de l'aimant par rapport au dispositif.
La translation relative du culot linéaire, et
15 éventuellement de l'aimant, « balaie » donc le premier
contenant, et découpe le culot en sous-unités dépendant
de la surface d'entrée dans les canaux fluidiques : si
tous les canaux sont identiques et localisés du même
côté de l'axe formé par le culot, la division sera par
20 exemple équitable. Avantagusement, l'aimant ou la
bobine à induction sont de taille supérieure au premier
contenant de sorte qu'ils « dépassent » de la surface
du premier contenant, assurant ainsi le transport
complet et homogène des particules magnétiques et une
25 sédimentation magnétique rapide. De façon préférée, ces
moyens magnétiques se déplacent perpendiculairement aux
canaux.

Cette variante, dans laquelle on assiste à
une division d'un culot formé, a pour principal
30 avantage la simplicité de sa mise en œuvre et ne

nécessite aucun alignement précis entre la structure magnétique et la structure fluidique.

Selon une autre variante du même mode de réalisation, un culot de dimensions réduites est formé
5 en face de chaque canal. Par exemple, une structure magnétique multi-pointes peut être utilisée, qui assure la translation de chaque culot dans le canal correspondant.

De façon avantageuse, les canaux fluidiques
10 sont reliés au premier contenant par un goulot qui permet une transition pour l'écoulement des particules magnétiques et un meilleur contrôle de la quantité transportée.

Les canaux peuvent être des capillaires. Il
15 est également possible de réaliser une ou des pistes magnétiques pour diriger les particules magnétiques. Avantageusement, pour les échantillons de petite taille, des pistes magnétiques peuvent remplacer les canaux.

20 Les particules magnétiques peuvent être transportées jusqu'aux deuxièmes contenants, où la procédure de libération de l'analyte a lieu, ou la libération peut s'effectuer avant l'arrivée de l'analyte dans les deuxièmes contenants, la suite du
25 transport de l'analyte pouvant être effectuée par déplacement de liquide.

Selon un autre mode de réalisation, la sédimentation des particules magnétiques, couplées aux analytes et présentes en solution dans le premier
30 contenant, est effectuée directement dans la pluralité de deuxièmes contenants. Dans ce cas, les deuxièmes

contenants peuvent être formés de façon intégrale avec le premier contenant, de façon avantageuse sans zone (comme une surface plane) où les particules pourraient être immobilisées hors des deuxièmes contenants.

5 On peut fixer l'analyte sur les particules magnétiques avant d'introduire la solution dans le premier contenant, ou introduire la solution et effectuer la fixation dans le contenant.

L'invention concerne également un
10 dispositif pour la division d'un analyte fixé sur des particules magnétiques, comportant plusieurs deuxièmes contenants reliés à un premier contenant, par exemple par des canaux fluidiques. De façon préférée, un support, qui peut être la base ou le couvercle du
15 dispositif, intègre le circuit fluidique complet. Avantageusement, des moyens d'introduction sont reliés au support.

Ces dispositifs peuvent faire partie de systèmes selon l'invention, qui comportent des moyens
20 magnétiques, éventuellement mobiles, notamment susceptibles de subir une translation relative, par rapport à un dispositif de transport ou division, et qui entraînent les particules magnétiques du premier vers les deuxièmes contenants du dispositif.

25 Des modes de réalisation préférés des dispositifs et systèmes découlent directement des avantages correspondants par rapport aux procédés.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

D'autres caractéristiques et avantages
30 apparaîtront dans les exemples ci-dessous, donnés bien

entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux figures annexées.

La figure 1 est une représentation schématique en perspective et éclatée avec une coupe partielle d'un premier mode de réalisation d'un dispositif selon la présente invention ;

La figure 2 est une représentation schématique de la formation du culot selon un premier mode de réalisation du système de division selon la présente invention ;

La figure 3 est une représentation schématique du procédé de division selon un mode de réalisation de la présente invention ;

La figure 4 est une représentation schématique d'un deuxième dispositif selon la présente invention ;

La figure 5 donne une représentation schématique d'une structure magnétique multi-pointes et de son action ;

La figure 6 représente un autre mode de réalisation du dispositif de division selon l'invention.

Sur ces figures, les références identiques indiquent des éléments identiques.

EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS

L'architecture générale d'un dispositif 1 selon un premier mode de réalisation de l'invention est représentée à la figure 1. Il est constitué d'une base 2, éventuellement prolongée par des moyens d'introduction 4 et un couvercle 6. Sur la base 2 est

localisée une chambre d'introduction (ou premier contenant) 10, reliée à des chambres de réaction (ou deuxièmes contenants) 12 par l'intermédiaire de canaux fluidiques 14 munis d'un goulot 16, ici représentés sous la forme de capillaires. Les canaux fluidiques 14 peuvent être recouverts sur leur fond par une bande ferromagnétique.

Les formes particulières des chambres 10, 12 sont données à titre d'exemple : les contenants et les capillaires peuvent être de forme et/ou de taille autres, et différents entre eux, suivant l'application ou la technologie de fabrication du dispositif 1. Il peut de même y avoir plusieurs canaux fluidiques 14 reliant la première chambre 10 à une seule chambre de réaction 12. Par ailleurs, d'autres éléments nécessaires pour les réactions peuvent être inclus dans le circuit fluide : il est par exemple possible d'intégrer des vannes à bulles 8, le long des capillaires 14 ou sur les deuxièmes contenants 12.

La figure 1 suggère un mode de fabrication selon lequel le dispositif 1 est fabriqué en gravant les contenants 10, 12 et les canaux fluidiques 14 dans un matériau plan servant de base 2, puis en assemblant par collage ou tout autre mode de fixation le couvercle 6. C'est un mode de fabrication possible, mais l'invention n'en est pas dépendante. Toute autre technologie de réalisation d'une chambre d'introduction 10 reliée à plusieurs chambres de réaction 12 par un ou plusieurs canaux fluidiques 14 est envisageable. En particulier, dans le domaine de l'intégration du circuit fluide sur un support, on peut considérer la

gravure sur silicium ou verre, la micro-injection, l'emboutissage à chaud, les techniques d'attaque par plasma, les techniques à l'image de la « LIGA » utilisant la lithographie, la galvanoplastie et le moulage de plastique. La gravure est préférée pour des profondeurs de l'ordre de 100 μm .

Il est également possible de ne pas avoir de gravure sur la base 2, mais sur le couvercle 6.

Il peut être avantageux de ne pas avoir de canaux « physiques » 14 mais juste des bandes ferromagnétiques déposées sur le fond de la base 2 qui dirigeront les particules magnétiques comme des canaux gravés. Ceci autorise plus de liberté dans la trajectoire du culot, les particules étant guidées par les pistes ferromagnétiques ; par ailleurs, la présence de bandes magnétiques permet de s'affranchir des problèmes d'état de surface des chambres fluidiques.

On peut également combiner ces deux techniques (canaux « physiques » et canaux de guidage magnétique), et déposer une bande magnétique au fond de chaque canal fluide « physique » 14, selon l'utilisation du dispositif.

Un évent 18 permet l'évacuation des fluides, air ou liquide, lorsqu'on remplit ou transfère des liquides dans les contenants. Il peut servir tant lors du remplissage du dispositif, pour évacuer les gaz présents, qu'en étape finale, pour récupérer les solutions d'analyte, mais n'est pas indispensable.

L'échantillon et les différents réactifs ou tampons peuvent être introduits dans les dispositifs de différentes manières. Par exemple, dans une première

variante, illustrée sur la figure 1, le couvercle 6 du dispositif est équipé de moyens d'introduction sous la forme d'une cuvette conique 4 ; il est clair que cette forme n'est qu'un exemple. En appliquant par exemple
5 une pipette ou un embout de seringue sur cette cuvette conique, on peut « pousser » le tampon ou un réactif à l'intérieur du dispositif en exerçant une pression sur le liquide. L'air ou tout autre fluide liquide ou gazeux initialement présent dans le dispositif sera
10 évacué du dispositif par les événements 18. Ces événements débouchent ici dans les chambres de réaction 12, mais ils pourront être placés suivant les cas à d'autres endroits du dispositif 1.

Une autre variante (non illustrée) pour
15 l'introduction de liquide dans le dispositif consisterait à l'introduire par un canal ou capillaire similaire aux événements 18 débouchant dans la première chambre 10, et lui-même connecté à l'extérieur du dispositif par une interface.

20 Pour utiliser le dispositif, on prépare tout d'abord une solution homogène contenant l'analyte selon des techniques connues : par exemple, l'analyte est extrait de l'échantillon le contenant, ou l'analyte « pur » est directement dilué en solution.

25 L'analyte est ensuite fixé sur des particules magnétiques. Les particules magnétiques ont une taille adéquate avec l'analyte à isoler et avec le volume de solution. Elles peuvent être de taille sub-micrométrique par exemple lorsque l'analyte est une
30 molécule. La quantité de particules utilisée est fonction notamment de la nature et de la quantité

d'analyte à fixer, elle est de préférence en nombre suffisant pour fixer la totalité de l'analyte. D'une manière générale, les particules magnétiques appropriées sont classiquement utilisées en biologie
5 moléculaire et cellulaire. Elles doivent si possible être en particulier superparamagnétiques afin de rediffuser spontanément après annulation du champ magnétique. Faisant partie de la famille des colloïdes magnétiques, ces particules sont polymérisées et
10 fonctionnalisées par la liaison avec un certain nombre d'anticorps.

Des processus de fixation sont connus de la personne du métier : adsorption, coalescence, capture par nucléotides présents à la surface des particules,
15 thermosensibilité.

Il est préférable que cette fixation soit réversible : il peut être nécessaire de libérer l'analyte pour qu'il puisse accéder plus facilement, ou être plus facilement accessible, à des réactifs
20 chimiques ou des moyens de détection. La libération de l'analyte, ou élution, est connue de la personne du métier.

L'étape de fixation peut précéder l'introduction de la solution dans le premier contenant
25 10, mais peut également se situer dans ce contenant : la solution est alors introduite dans le contenant où les particules magnétiques sont également présentes.

Le dispositif 1 est, préalablement à l'introduction de l'analyte, rempli de tampon sans
30 analyte recherché et sans particule magnétique. Ce tampon peut être introduit en versant la quantité

nécessaire dans les moyens d'introduction 4, et en y appliquant une pression pneumatique. Une fois le dispositif rempli, le tampon en excès présent dans les moyens d'introduction 4 peut être retiré, par exemple à l'aide d'une pipette. Il est possible de remplir les deuxièmes contenants 12 par une solution différente du tampon de la chambre d'introduction 4, 10, et même d'utiliser une solution différente dans chaque chambre 12, selon l'utilisation du dispositif et les analyses prévues.

L'échantillon composé d'une certaine quantité de tampon dans lequel les analytes intéressants ont été préalablement fixés sur des particules magnétiques est déposé dans le premier contenant 10.

Tel que précisé auparavant, il est possible de placer les particules magnétiques dans le premier contenant, puis d'introduire les analytes en solution dans le tampon pour les fixer sur les particules.

Les particules magnétiques sont ensuite, dans ce premier mode de réalisation, attirées vers le fond de la chambre d'introduction 10 : étape de sédimentation. De préférence, la sédimentation est effectuée à l'aide de (premiers) moyens magnétiques : les particules sont en effet la plupart du temps de taille micrométrique, voire nanométrique, et les moyens magnétiques permettent d'accroître la vitesse de sédimentation par rapport à un dépôt naturel.

La vitesse de sédimentation de particules magnétiques de taille fixée est dépendante de la distance des particules à la face supérieure d'un bloc

magnétique situé sous le contenant de la solution de particules, et également du volume du bloc.

Dans le cadre du mode de réalisation présenté dans les figures suivantes, le culot est formé à l'aide des premiers moyens magnétiques représentés par l'aimant 20 qui va être utilisé également pour le déplacement du culot 22, et qui présente la forme indiquée à la figure 2. Il est positionné sous le dispositif 1, à l'aplomb de la cuvette conique 4 dans le cas illustré. Les particules magnétiques sont alors rassemblées en un culot linéaire 22 traversant la première chambre 10 selon un axe AA. Cependant et tel que spécifié auparavant, les premiers moyens magnétiques peuvent avoir été utilisés pour uniquement sédimenter les particules dans un culot initial, éventuellement de la même forme que ce culot 22, le déplacement étant assuré par des deuxièmes moyens magnétiques différents. Dans ce cas, les deuxièmes moyens magnétiques 20 peuvent avoir réarrangé le premier culot.

Selon une variante préférée, le déplacement du culot 22 est assuré par le déplacement relatif des premiers moyens magnétiques, confondus avec les deuxièmes, tel qu'il va être détaillé par la suite : en effet, un tel déplacement relatif permet de contrôler le déplacement du culot et l'homogénéité du champ magnétique appliqué. Il est cependant possible d'envisager d'autres solutions, par exemple un aimant puissant immobile situé en direction des deuxièmes contenants et attirant le culot 22. Dans le cas de l'utilisation d'une bobine en lieu et place d'un

aimant, le déplacement de la bobine peut ainsi être remplacé par une commutation entre bobines successives d'un ensemble prévu à cet effet.

Avantageusement, cet aimant long 20
5 « dépasse » du premier contenant 10. Au cours du mouvement, l'aimant 20 balaie ainsi l'intégralité du contenant 10 situé à sa droite, c'est-à-dire dans le sens du mouvement (flèche). En fait, il est préférable qu'il soit plus long que le culot linéaire 22, et ce si
10 possible tout au long du déplacement. En règle générale, il est donc souhaitable que la longueur de l'aimant 20 soit telle que, à chaque instant du déplacement relatif de l'aimant, la projection sur un plan contenant l'aimant (ici par exemple l'horizontale)
15 et selon le plan orthogonal au déplacement (soit ici selon le plan vertical passant par l'axe AA), de la largeur du premier contenant soit incluse dans l'aimant, ou le segment représenté par l'aimant ; la largeur du contenant 10 est définie par le plus grand
20 segment issu de l'intersection de la verticale et du culot linéaire 22, qui traverse le premier contenant 10.

On notera par ailleurs sur la figure 2 l'absence de goulot 16 : la structure en forme de
25 « peigne » peut être avantageuse pour mieux contrôler la division.

La figure 3 représente la division du culot et donc de l'analyte par déplacement du culot 22 du premier contenant 10 vers les deuxièmes 12. La figure
30 3a reprend la figure 2 et montre donc un culot 22 de forme linéaire, ce culot étant le résultat du

réarrangement des particules par les deuxièmes moyens magnétiques.

Il est souhaitable dans ce mode de réalisation que tous les canaux fluidiques soient localisés du même côté de l'axe AA représenté par le culot 22. En effet dans le cas contraire, ainsi qu'il sera mieux compris par la suite, la translation du culot impliquerait le non remplissage des chambres de réaction 12 localisées de l'autre côté de la direction de translation.

Par déplacement relatif dans le cas présent, ici une translation, de l'aimant 20 vers les deuxièmes chambres 12, le culot initial « se dirige » vers les canaux fluidiques 14 : voir figure 3b. Par déplacement relatif, il faut comprendre soit le déplacement physique de l'aimant 20 qui peut être bougé par quelque mécanisme que ce soit, voire manuellement, sous le support 2-6, soit le déplacement du support 2-6, par exemple le long d'un rail, au-dessus de l'aimant 20. A simple titre d'exemple, on peut mentionner l'utilisation d'un moteur pas à pas ou d'un vérin pneumatique en tant que moyens de translation, mais des moyens quelconques de déplacement connus de la personne du métier sont envisageables selon le cas.

Grâce à la translation relative des moyens magnétiques, on constate que le culot conserve sa structure linéaire lors de son déplacement.

Le culot 22 atteint ensuite l'entrée des canaux fluidiques 14 dont les parois ont pour fonction de le découper en segments : voir figure 3c. La translation du culot 22 est poursuivie le long des

canaux fluidiques 14 (figure 3d) pour que les échantillons atteignent les deuxièmes contenants, ou chambres de réaction, 12 (figure 3e).

Dans l'exemple montré dans la figure 3, les canaux fluidiques 14 sont parallèles entre eux et perpendiculaires à l'axe du culot 22, le déplacement relatif de l'aimant étant parallèle à la direction des canaux. Ces deux éléments sont préférés car le contrôle de la localisation de l'analyte dans les canaux et chambres de réaction est plus aisé. Cependant, d'autres possibilités sont envisageables (aimant oblique et/ou canaux divergents, et/ou déplacement oblique...).

Par ailleurs, la division présentée sur la figure 3 est équitable, c'est-à-dire que chacun des deuxièmes contenants 12 reçoit la même quantité d'analyte, et que l'analyte initial a été divisé en parties égales, ici huit. Cependant, une modification du dessin des canaux fluidiques permet de réaliser des divisions non équitables mais contrôlées. La figure 4 montre un tel exemple où les deuxièmes contenants 12a-h ne contiennent pas chacun le huitième de la quantité d'analyte initial : la chambre 12a recevra pratiquement le tiers de la quantité d'analyte, soit trois fois plus par exemple que les chambres 12d-f, dont le contenu sera identique entre elles.

Une autre variable concerne le nombre de canaux fluidiques débouchant dans une seule chambre de réaction 12 : pour un dessin de canaux similaires à celui de la figure 3, si deux canaux se rejoignent dans une chambre 12 alors que les autres débouchent chacun

dans une chambre indépendante, cette chambre 12 recevra le double d'analyse des autres.

Le procédé selon l'invention permet donc des divisions non équitables maîtrisées, et ceci en
5 amont de la manipulation de liquide elle-même. Il est par exemple envisageable de créer des kits où des réactifs sont déjà disposés dans les chambres de réaction 12 par tout moyen connu, et dont le dessin de canaux 14 et donc les coefficients de division ont été
10 définis en fonction des sensibilités de réaction.

Au lieu d'utiliser un aimant long et un culot linéaire pour le déplacement, il est possible selon une autre variante de reformer directement un nombre de culots correspondant au nombre de canaux
15 fluidiques 14. Une structure magnétique avec multiples saillies 24 peut par exemple remplacer l'aimant long 20 pour un dispositif tel que représenté en figure 2.

Un dispositif à saillies multiples 24 consiste en un bloc magnétique 26 dont la surface
20 supérieure est préférentiellement taillée afin d'obtenir des saillies, « pointes » ou pyramides, 28 : voir figure 5. Il est possible également de rapporter une pièce polaire en matériau ferromagnétique (fer, alliage fer-chrome, tel l'alliage AFK502 de Imphy SA)
25 comportant des pointes usinées préférentiellement sous forme de pyramides 28 à la surface plane d'un bloc magnétique. Le rôle des pointes 28 est d'incurver la trajectoire des particules magnétiques lors de la fin de leur sédimentation : jusqu'à un éloignement des
30 particules en solution par rapport aux pointes de 2 à 3 fois la hauteur de celles-ci, l'influence du bloc 26

est prépondérante, et la sédimentation est homogène. Ensuite, plus les particules se rapprochent du fond du premier contenant 10, et donc de la surface du bloc magnétique 26, plus elles subissent l'influence relative des protubérances aimantées que sont les pointes 28. Les culots 30 proprement dits seront donc localisés au dessus des pointes 28.

Sur la figure 5, les pointes sont montrées séparées par commodité, mais il est clair qu'elles peuvent aussi former un réseau plus dense. De même, si ici elles sont alignées selon un axe BB, dans certaines applications, il est possible de former un réseau en « damiers » par exemple, avec plusieurs axes BB de saillies, ou tout autre géométrie appropriée.

Si en théorie, une réduction d'échelle n'affecte pas les propriétés magnétiques (la valeur du champ est conservée), par contre les forces magnétiques proportionnelles au gradient du champ magnétique sont modifiées : s'exerçant dans un volume réduit, elles sont augmentées dans un rapport inverse des dimensions. Le choix des dimensions et matériau du système magnétique 24 dépend donc des conditions d'utilisation.

Il n'y a pas de limitation dans la réalisation de blocs magnétiques de grande taille : jusqu'à quelques dizaines de centimètres, avec 13 pointes au pas de 5 mm sur une longueur de 65 mm par exemple. Comme la vitesse de sédimentation dépend du volume du bloc magnétique, pour obtenir une sédimentation homogène, on peut donc de façon avantageuse utiliser un bloc 26 ayant une surface

supérieure à celle du premier contenant 10 de la solution d'analyte.

Un autre exemple de réalisation est un bloc de NdFeB de 15x40x25 mm avec 6 pyramides de section carrée de 5 mm de côté et d'une hauteur de 2 mm. Ce modèle est très performant avec notamment une hauteur de liquide dans le premier contenant 2 de 5 mm.

En particulier, pour un premier contenant 10 de section 3 mm et de profondeur 4 mm, l'un des modes préférés consiste à avoir une distance de 1 mm entre le fond du premier contenant et le haut du bloc magnétique, c'est-à-dire entre le culot de particules magnétiques 30 et le sommet de la (des) pointe(s) 28, de 1 mm environ.

Pratiquement, la dimension du bloc magnétique 26 peut être réduite de manière homothétique sans difficulté jusqu'à des surfaces de l'ordre de 100 millimètres au carré. En dessous, il convient d'usiner les pointes dans un matériau magnétique doux ayant une forte aimantation à saturation, comme le fer pur, ou un alliage $\text{Fe}_{50}\text{Co}_{50}$.

Pour des surfaces encore plus petites (côtés de l'ordre de 100 μm), des procédés de la microélectronique tel le dépôt de nickel en surface, sont utilisés : le bloc parallélépipédique permet d'aimanter (de polariser) les dépôts. Ce mode de réalisation en particulier peut être combiné à l'utilisation de pistes magnétiques : la forme des dépôts peut par exemple consister en plots de concentration reliés aux chambres de réaction 12 par

des pistes, les matériaux déposés étant de préférence revêtus d'une couche de protection.

5 Tout comme l'aimant long 20, les moyens magnétiques avec saillie(s) 24 permettent, par un déplacement relatif, par exemple une translation relative le long des canaux, de réaliser le transport des culots 30, cette fois de dimensions réduites, dans chacun des canaux.

10 Cette variante, à moins qu'elle ne soit combinée avec les pistes magnétiques, est plutôt adaptée pour fonctionner avec des dispositifs de plus grande taille, avec un pas entre les culots 30, donc entre les canaux, supérieur au millimètre. De cette façon, un alignement assez précis peut être effectué
15 entre la structure magnétique et la structure fluidique. Par contre, il permet de diviser une solution initiale plus faiblement concentrée, suivant la densité de pointes 28. De plus, la séparation étant effectuée en l'absence de dispositif de séparation
20 mécanique, les particules magnétiques ne sont pas susceptibles d'être captées par une paroi du séparateur.

Un autre mode de réalisation d'un dispositif 40 permettant de procéder selon l'invention
25 est représenté sur la figure 6. Tel qu'on le constate, ici, les canaux fluidiques correspondent en fait à des communications permettant le passage de fluide : les deuxièmes contenants 42 apparaissent comme des prolongements directs du premier contenant 44. Le
30 dispositif 40 peut de fait être constitué d'un seul tenant, avec moulage, ou emboutissage etc., d'une paroi

46 pour créer les deuxièmes contenants 42 ; cette paroi 46 peut également être rapportée sur un contenant constitué. Il est souhaitable, bien que non indispensable, que la transition se fasse de façon graduelle grâce à des goulots 48 ; il est également possible que chacun des deuxièmes contenants 42 soit constitué d'un cône. En particulier, il est préférable que la paroi 46 du premier contenant 44 sur laquelle sont disposées les saillies représentant les deuxièmes contenants 42 n'ait aucune zone plane.

La division peut alors s'opérer directement lors de la sédimentation : des (premiers) moyens magnétiques 50 situés sous la surface 46 attirent les particules magnétiques en solution dans le premier contenant 44, et il y a formation de culots dans chacun des deuxièmes contenants 42, aboutissant par là-même à une division des analytes présents dans l'échantillon initial.

Pour ce mode de réalisation, la force de l'aimant 50 est si possible homogène au niveau des deuxièmes contenants 42. La fabrication du dispositif 40 et le mécanisme de contrôle de l'aimant 50 sont réduits par rapport aux modes décrits précédemment.

La figure 6 représente un mode de réalisation où l'aimant est localisé sous le dispositif 40. Ce mode est préféré car il fait usage parallèlement de la gravité, mais il est possible d'avoir un dispositif similaire, dont la surface 48 munie des saillies formant les deuxièmes contenants 42 ne soit pas localisée sur l'embase. De même, la disposition représentée n'est qu'illustrative, et la sédimentation

peut être effectuée avec un aimant de forme différente du bloc 50 (par exemple, saillies sous chaque deuxième contenant 42).

5 La sédimentation en une pluralité de culots dans les deuxièmes contenants 42 peut, comme précédemment, également être suivie d'un transport de l'analyte de ces deuxièmes contenants par un chemin fluide (non représenté) afin de procéder à une analyse.

10 Selon l'invention, la division de l'analyte est donc effectuée sans transfert de liquide autre que l'introduction de la solution initiale, et notamment sans pipetage, toujours source d'imprécisions, qui plus est cumulatives. Aucune valve n'est nécessaire, et le
15 dispositif 1, 40 est d'autant plus simple à construire, sans compter l'augmentation de la précision inhérente à la suppression de pièces mécaniques.

Le système selon l'invention peut être conçu avec des contenants et dispositifs de tailles
20 variées, de quelques micromètres jusqu'à plusieurs centimètres.

Par exemple, pour un dispositif similaire à celui de la figure 1, on peut avoir :

- Volume du premier contenant 10 : 0,6 μ l
- 25 - Dimensions du premier contenant 10 :
4 mm x 1,5 mm x 0,1 mm
- Volume des deuxièmes contenants 12 : 40 nl
- Dimensions des deuxièmes contenants 12 :
0,4 mm x 1 mm x 0,1 mm
- 30 - Taille des capillaires de liaison 14 :
2 mm x 0,1 mm x 0,1 mm

Pas entre les chambres : 500 μ m

Taille totale de la base 2 : 6 mm x 6 mm

Taille de la base de l'aimant : 8 mm x 8 mm

5 Une autre possibilité pour une base 2 de dimensions 8 x 8 mm serait d'avoir un aimant dont le bloc principal a des dimensions légèrement supérieures à 8 x 8 mm.

10 De même, tel que décrit précédemment, il est possible d'avoir des aimants de tailles et formes différentes. Les aimants longs eux-mêmes peuvent être de formes différentes, avec par exemple un bloc parallélépipédique, ou alors un bloc de section transversale en pentagone, avec un rectangle surmonté d'un triangle, ce triangle étant éventuellement
15 tronqué.

Le dispositif de division peut faire partie d'un ensemble plus large : on peut ainsi considérer des divisions successives de l'échantillon initial, où un deuxième contenant d'un dispositif est lui-même premier
20 contenant pour un autre dispositif le suivant, avec éventuellement traitement de l'échantillon entre différentes divisions successives.

Enfin, les mêmes moyens magnétiques permettent de contrôler la division pour un grand
25 nombre et une grande variété de dispositifs 1, 40. Pour le premier mode de réalisation par exemple, tout jeu de supports 2-6 de forme et taille identiques dont la chambre d'introduction 10 est similaire mais dont les circuits fluidiques 14 sont différents peut être
30 contrôlé par le même aimant.

Exemple d'utilisation

On peut mettre en œuvre dans chaque chambre réactionnelle 12 une amplification NASBA avec détection temps réel par une balise moléculaire. Dans cette méthode de détection/dosage de cibles nucléiques
5 présentes en solution, il est en effet nécessaire de diviser l'échantillon en plusieurs canaux de façon à pouvoir réaliser un maximum de tests en parallèle.

La procédure se déroule alors comme suit :

- 10 i. Les cibles à amplifier sont capturées sur des particules magnétiques selon les techniques classiques ; on utilise autant de sondes de capture fixées sur les particules qu'il y a de cibles à amplifier, et complémentaires à ces cibles.
- 15 ii. Un dispositif tel que celui schématisé en figure 1 est rempli avec un tampon adéquat, par exemple TE NaCl 1M, ou Triton X-100 0,05%, et ce à une température d'environ 30°C. Lors de ce remplissage, des chambres de piégeage d'air 8 présentes le long
20 des capillaires 14 restent remplies d'air.
- iii. L'échantillon est déposé dans un cône d'entrée 4 du dispositif tel que montré dans la figure 1.
- iv. La sédimentation magnétique, la division et le transport selon l'invention sont réalisés, le
25 transport de l'analyte déplaçant celui-ci jusque dans les deuxièmes chambres 12.
- v. Dans chaque chambre est injecté le mélange d'amplification contenant les enzymes et les amorces spécifiques, par exemple à l'aide de pompes
30 à seringues. Cette injection se fait par l'autre

extrémité que celle utilisée pour introduire l'échantillon, c'est-à-dire via les événements 18.

- 5 vi. La température du dispositif est alors élevée jusqu'à 42°C, et le système est laissé à incuber pendant 1 à 2 h, la fluorescence des balises étant lue à intervalle de temps régulier pour chaque chambre de réaction 12.

REVENDICATIONS

1. Procédé de division d'un analyte
présent dans une solution d'un premier contenant (10,
5 44) dans une pluralité de deuxièmes contenants (12,
42), l'analyte étant fixé sur des particules
magnétiques, comprenant la sédimentation des particules
magnétiques par des premiers moyens magnétiques et la
formation d'une pluralité de culots dans les deuxièmes
10 contenants (12, 42).

2. Procédé selon la revendication 1,
comprenant la sédimentation des particules magnétiques
en au moins un premier culot (22, 30) dans le premier
15 contenant (10) et le transport du ou des premiers
culots vers les deuxièmes contenants (12), chaque
deuxième contenant (12) étant relié au premier
contenant (10) par un canal fluidique (14) au moins.

20 3. Procédé selon la revendication 2, dans
lequel le transport du ou des premiers culots (22, 30)
vers les deuxièmes contenants (12) est effectué par
déplacement relatif de deuxièmes moyens magnétiques
(20, 24) par rapport aux canaux fluidiques (14).

25 4. Procédé selon la revendication 3, dans
lequel chaque canal fluidique (14) est parallèle aux
autres et dans lequel le déplacement relatif des
deuxièmes moyens magnétiques (20, 24) est parallèle à
30 la direction des canaux (14).

5. Procédé selon l'une des revendications 3 ou 4, dans lequel les premiers et deuxièmes moyens magnétiques sont confondus en une seule entité.

5 6. Procédé selon l'une des revendications 2 à 5, dans lequel le premier culot (22) est unique et de forme linéaire, séparant le premier contenant (10) en deux parties.

10 7. Procédé selon la revendication 6, dans lequel chaque canal fluide (14) est localisé du même côté du culot (22) dans le sens de déplacement des deuxièmes moyens magnétiques (20).

15 8. Procédé selon l'une des revendications 6 ou 7, dans lequel les deuxièmes moyens magnétiques comportent un aimant long (20).

20 9. Procédé selon la revendication 8, dans lequel l'aimant (20) est déplacé relativement par rapport aux canaux fluidiques (14), la longueur de l'aimant (20) étant telle que, à chaque instant du déplacement relatif de l'aimant, la projection sur l'aimant, et selon un plan orthogonal au déplacement
25 contenant l'aimant (20), du segment issu de l'intersection de ce plan et du fond du premier contenant (10) sur lequel repose le culot (22) est incluse dans le segment délimité par l'aimant (20).

30 10. Procédé selon l'une des revendications 2 à 5, dans lequel les deuxièmes moyens magnétiques

(24) sont tels qu'ils forment un culot unique (30) en face de chaque canal fluidique (14).

11. Procédé selon la revendication 10, dans lequel l'ensemble des culots (30) subit un déplacement simultané dans la direction de chaque canal fluidique (14).

12. Procédé selon la revendication 11, dans lequel les deuxièmes moyens magnétiques (24) comportent une structure magnétique en saillies simple ou multiples (28).

13. Procédé selon l'une des revendications 2 à 12, dans lequel le ou les premiers culots (22, 30) sont déplacés jusque dans les deuxièmes contenants (12).

14. Procédé selon l'une des revendications 2 à 13, dans lequel chaque canal fluidique (14) comprend une bande ferromagnétique, et dans lequel le ou les premiers culots (22, 30) sont déplacés par guidage le long de cette bande.

15. Procédé selon l'une des revendications 2 à 14, dans lequel chaque deuxième contenant (12) est relié au premier contenant (10) par un seul canal fluidique (14) composé d'un capillaire.

16. Procédé selon la revendication 1, dans lequel la sédimentation des particules magnétiques

forme une pluralité de culots directement dans les deuxièmes contenants (42).

17. Procédé selon l'une des revendications
5 précédentes, dans lequel la division est équitable, c'est-à-dire que la quantité d'analyte dans chaque deuxième contenant (12, 42) est identique.

18. Procédé selon l'une des revendications
10 précédentes, comprenant les étapes préalables de fixation de l'analyte sur les particules et l'introduction de la solution contenant les analytes fixés sur les particules dans le premier contenant.

15 19. Dispositif (1, 40) de division d'un analyte présent dans un liquide et fixé sur des particules magnétiques comprenant un premier contenant (10, 44) destiné à contenir un liquide et une pluralité de deuxièmes contenants (12, 42) reliés chacun au
20 premier contenant (10, 44) via un canal fluidique (14, 48).

20. Dispositif selon la revendication 19, où chaque canal fluidique (14) est un capillaire.

25 21. Dispositif selon l'une des revendications 19 à 20, où chaque canal fluidique (14) est relié au premier contenant par un goulot (16, 48).

30 22. Dispositif selon l'une des revendications 19 à 21, où le premier contenant (10,

44) est relié à des moyens d'introduction d'une solution (4).

23. Dispositif selon l'une des
5 revendications 19 à 22, où chaque deuxième contenant (12) est muni de canaux (18) d'entrée-sortie de fluide.

24. Dispositif selon l'une des
10 revendications 19 à 23, comprenant un support (2, 6) intégrant le premier contenant (10), les deuxièmes contenants (12) et les canaux fluidiques (14).

25. Dispositif selon la revendication 24,
15 où chaque canal fluidique (14) est identique et où le pas entre deux canaux fluidiques voisins est constant.

26. Dispositif selon l'une des
20 revendications 19 à 25, comprenant une piste magnétique pour chaque canal fluidique (14) pour diriger le déplacement d'un culot (22, 30) de particules magnétiques.

27. Jeu de dispositifs de division
25 d'analyte comprenant une pluralité de dispositifs (1, 40) selon l'une des revendications 19 à 26.

28. Jeu selon la revendication 27 tel que
les premiers contenants (10, 44) de chaque dispositif ont une taille et une forme similaires.

29. Système de division d'un analyte, fixé sur des particules magnétiques présent dans un liquide, comprenant un dispositif (1, 40) selon l'une des revendications 19 à 26 ou un jeu de dispositifs selon l'une des revendications 27 ou 28, et des moyens magnétiques (20, 24, 50).

30. Système selon la revendication 29, dans lequel les moyens magnétiques comprennent des moyens magnétiques mobiles (20, 24) de manière relative par rapport aux canaux (14), permettant ainsi de déplacer les particules magnétiques sur lesquelles est fixé l'analyte du premier contenant (10) aux deuxièmes contenants (12) via les canaux fluidiques (14).

31. Système selon la revendication 30, dans lequel les moyens magnétiques mobiles (20, 24) sont susceptibles de se déplacer en translation par rapport au ou aux canaux (14).

32. Système selon l'une des revendications 30 à 31, dont les moyens magnétiques mobiles comportent un aimant long (20).

33. Système selon la revendication 32, où la longueur de l'aimant (20) est telle que toute projection de la largeur du premier contenant (10) sur l'aimant selon un plan orthogonal au déplacement et contenant l'aimant, soit incluse dans l'aimant, la largeur du premier contenant étant définie par le

segment issu de l'intersection du plan perpendiculaire au déplacement et du fond du premier contenant (10).

5 34. Système selon l'une des revendications 32 ou 33, où chaque canal fluidique (14) est localisé du même côté du premier contenant dans la direction de déplacement (AA) de l'aimant.

10 35. Système selon l'une des revendications 29 à 31, dans lequel les moyens magnétiques sont de structure en saillie, simple ou multiples (24).

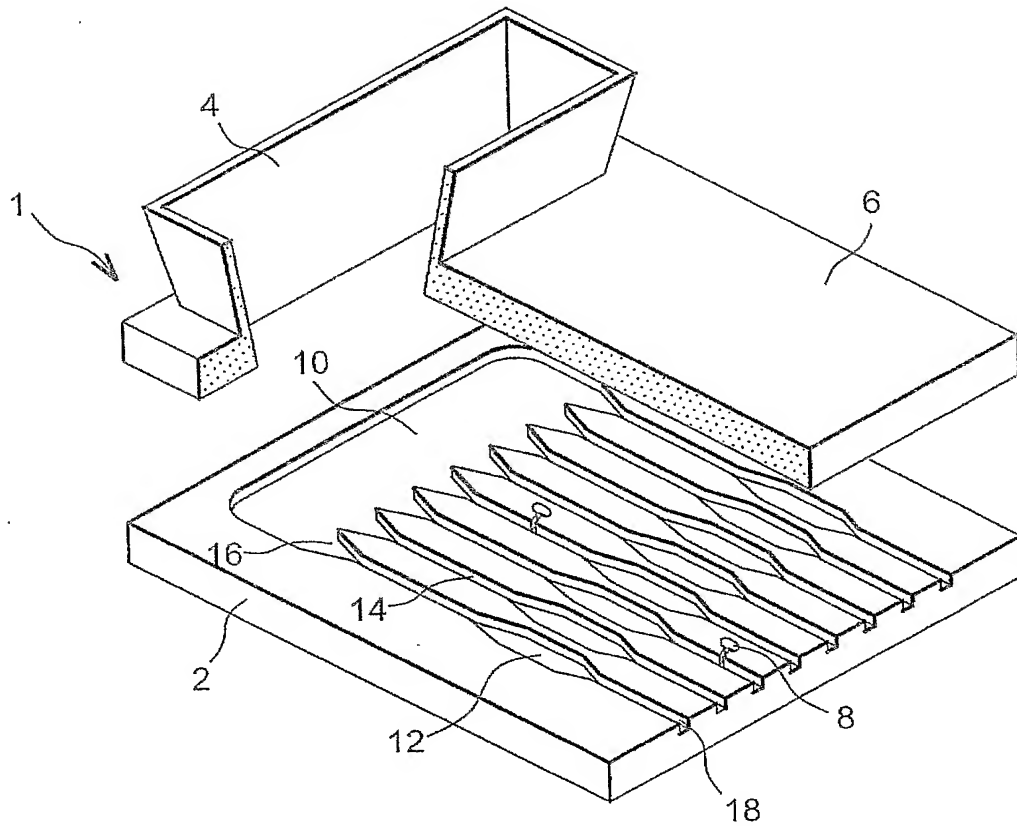


FIG. 1

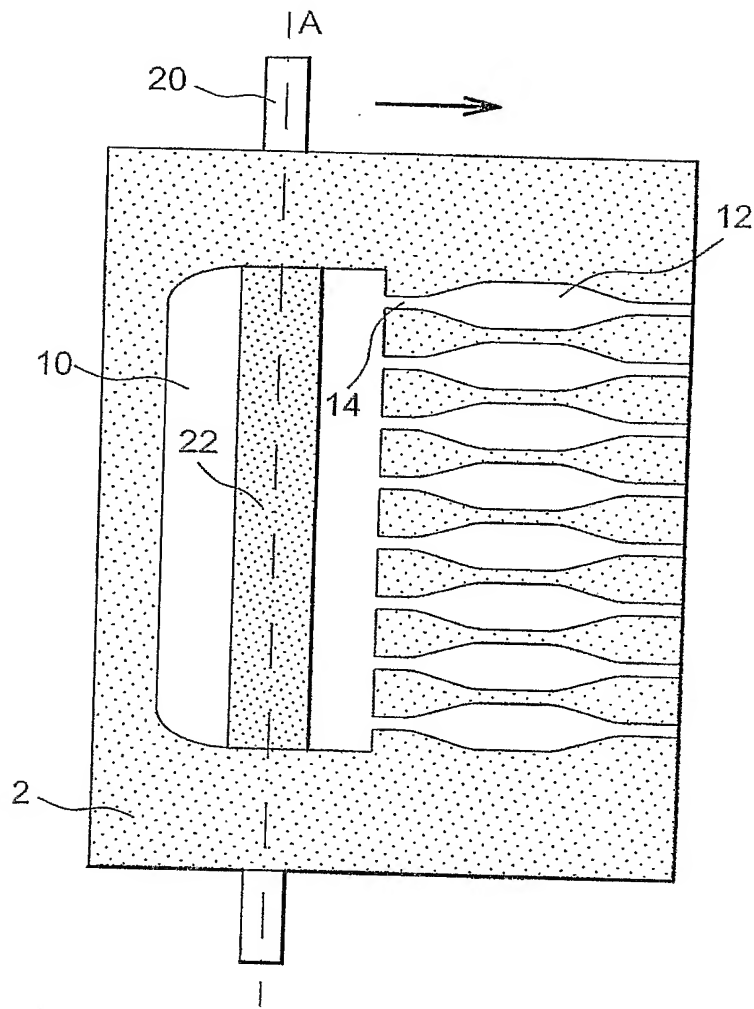
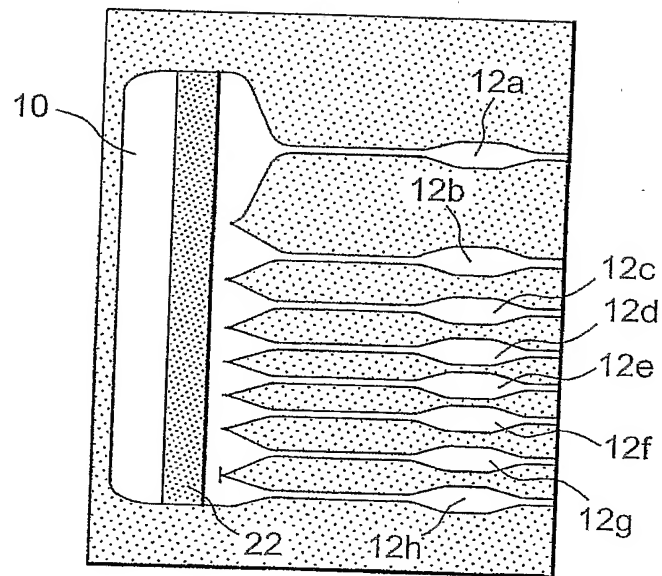


FIG. 2

FIG. 4



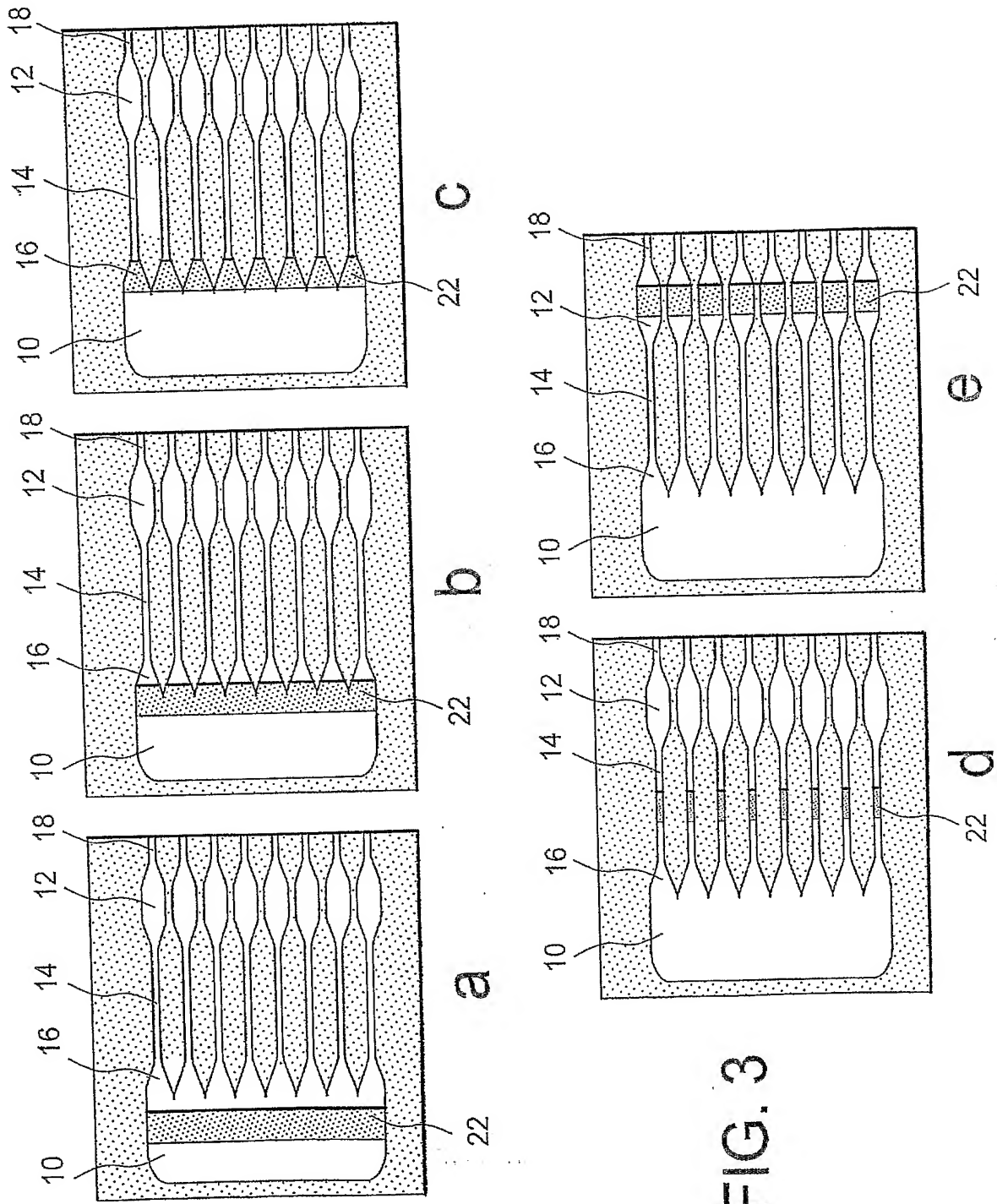


FIG. 3

4 / 4

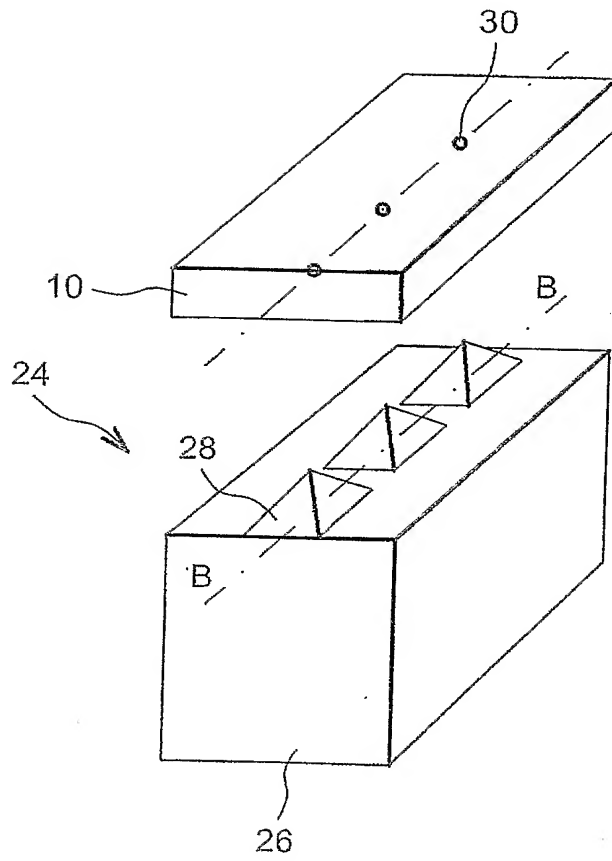
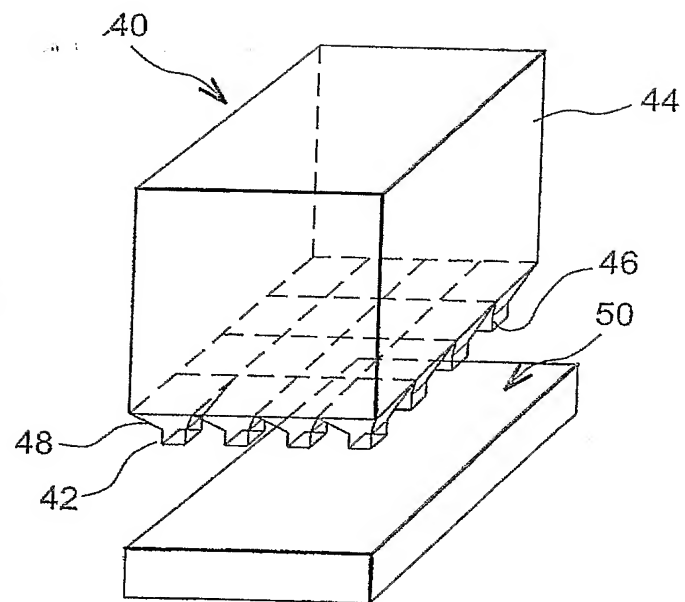


FIG. 5

FIG. 6





BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Désignation de l'inventeur

Vos références pour ce dossier	B14440 LP-DD2603YL
N°D'ENREGISTREMENT NATIONAL	03.51059 DU 15.12.2003
TITRE DE L'INVENTION	
	PROCÉDÉ ET DISPOSITIF DE DIVISION D'UN ÉCHANTILLON BIOLOGIQUE PAR EFFET MAGNÉTIQUE.
LE(S) DEMANDEUR(S) OU LE(S) MANDATAIRE(S):	
DÉSIGNÉ(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S):	
Inventeur 1	
Nom	CAMPAGNOLO
Prénoms	Raymond
Rue	72 rue des Eaux Claires
Code postal et ville	38100 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 2	
Nom	JEANDEY
Prénoms	Christian
Rue	15 chemin Fiancé Le Muret
Code postal et ville	38120 SAINT-EGREVE
Société d'appartenance	
Inventeur 3	
Nom	GINOT
Prénoms	Frédéric
Rue	32 rue Casimir Brenier
Code postal et ville	38120 SAINT-EGREVE
Société d'appartenance	
Inventeur 4	
Nom	POUTEAU
Prénoms	Patrick
Rue	10 allée Château Corbeau
Code postal et ville	38240 MEYLAN
Société d'appartenance	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

PARIS LE 09 FEVRIER 2004

J. LEHU

PCT/EP2004/053411



⑥